

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Kotoran Kambing

Isolasi bakteri dari kotoran kambing, dilakukan dengan menggunakan media umum yaitu *Nutrient Agar* (NA), sebagai media untuk semua isolat bakteri. Berdasarkan hasil isolasi bakteri yang telah dilakukan maka diperoleh 13 isolat bakteri dari kotoran kambing yang mampu tumbuh dan berkoloni pada media *Nutrient Agar* dan CMC agar (Lampiran 2).

Isolat yang diperoleh dari hasil isolasi dilakukan pemurnian dengan menggosokkan isolat dengan metode teknik *quadran streak* pada media *Nutrient Agar* (NA) yang diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Karakterisasi masing-masing isolat yang diperoleh dari hasil pemurnian dilakukan pengamatan dengan cara makroskopis pada morfologi koloni masing-masing isolat bakteri. Pengamatan morfologi meliputi karakterisasi bentuk, tepi, elevasi dan warna koloni dari tiap-tiap koloni. Menurut Dwijoseputro (2005), pengamatan makroskopis morfologi koloni meliputi bentuk koloni (dilihat dari atas), permukaan koloni (dilihat dari samping), tepi koloni (dilihat dari atas) dan warna koloni bakteri. Hasil isolasi bakteri yang dilakukan dengan menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) diperoleh 13 isolat yang memiliki karakterisasi koloni yang berbeda satu sama lain setelah dilakukan tahap pemurnian (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Karakter Morfologi Koloni Bakteri dari Kotoran Kambing

No	Kode Isolat	Morfologi Koloni			
		Bentuk	Elevasi	Tepi	Warna
1.	FK 2	circulair	flat	entire	Transparan
2.	FK 4	circulair	convex	entire	Putih susu
3.	FK 7	circulair	convex	entire	Putih susu
4.	FK 9	circulair	flat	entire	Putih susu
5.	FK 12	circulair	flat	entire	Putih susu
6.	FK 14	circulair	convex	entire	Putih susu
7.	FK 15	circulair	flat	entire	Putih susu
8.	FK 16	circulair	convex	entire	Putih susu
9.	FK 18	circulair	convex	entire	Putih susu
10.	FK 20	circulair	convex	entire	Putih susu
11.	FK 21	circulair	flat	entire	Putih susu
12.	FK 22	circulair	convex	entire	Putih susu

Hasil pengamatan morfologi koloni secara makroskopis bakteri pada media umum tampak semua koloni bakteri mempunyai warna putih susu, bentuk morfologi pada semua koloni bakteri mempunyai ciri-ciri bentuk koloni *circulair*, sebagian besar elevasinya berbentuk *convex* hanya pada beberapa isolat mempunyai elevasi *flat*, dan tepinya bertepi *entire*. Dwijoseputro (2005) juga menyebutkan pengamatan makroskopis karakteristik morfologi koloni pada media pertumbuhan bakteri, yaitu bentuk koloni berupa *circulair*, *filamentous*, *irregulaer*, *rhizoid*, dan *spindle*, permukaan koloni berupa *Flat*, *raised*, *convex*, dan *umbonate*. Tepi koloni dapat berupa *Entire*, *lobate*, *undulate*, *serrate*,

felamenthous, dan *curled* dan warna koloni bakteri berupa keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hampir bening.

4.2 Karakteristik Sel Bakteri Secara Mikroskopis

Isolat bakteri yang diperoleh dari kultur dalam media *Nutrient agar* dan CMC kemudian dilakukan identifikasi secara mikroskopis untuk mengetahui karakter sel bakteri (Lampiran 3) karena mengingat bakteri merupakan kelompok prokariotik yang belum memiliki organel-organel sel yang kompleks, sehingga terdapat perbedaan struktur dinding sel bakteri yang dimasukkan dalam 4 kategori umum yaitu bakteri gram positif dan negatif yang mempunyai dinding sel, berdinding sel tidak sempurna dan *archaeobacteria* (Holt *et. al*, 1994).

Identifikasi masing-masing karakter sel bakteri mengacu pada buku pedoman *Bergey Manual of Determinative Bacteriology 9th* dengan beberapa pengujian diantaranya dengan pengamatan bentuk sel, pengecatan gram, pewarnaan endospora, pengujian katalase meliputi pengamatan bakteri yang bersifat aerobik dan anerobik (Holt *et. al*, 1994).

4.2.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram merupakan penentuan karakter isolat berdasarkan perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan negatif. Semua isolat bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi diwarnai dengan melakukan pewarnaan Gram. Pengujian gram menunjukkan gram negatif warna merah pada sebagian besar isolat bakteri. Hasil gram positif menunjukkan warna ungu hanya pada FK 4, FK 12, FK 14, dan FK 20. Sedangkan hasil gram negatif pada

sebagian besar isolat dapat dilihat pada (Tabel 4.2). Sifat gram negatif dengan warna merah pada sel bakteri menurut Strohl *et al.* (2001) disebabkan oleh dua faktor, yaitu lapisan peptidoglikon yang tipis (satu sampai dua lapis) dan kadar lipid yang tinggi (20%). Lapisan peptidoglikon yang tipis menyebabkan permeabilitas membran sel lebih besar sehingga kristal yodium yang berfungsi sebagai penguat warna menjadi mudah terlepas. Sedangkan kadar lipid yang tinggi akan mudah larut selama pencucian dengan alkohol dan menyebabkan pori-pori membran sel membesar.

Bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikon yang sangat tebal, yaitu kurang lebih 20-80 nm, bila dibandingkan dengan bakteri gram negatif dengan tebal peptidoglikon sekitar 2-7 nm. Bakteri gram positif pada umumnya tersusun oleh sebagian besar *teichoid acid*, polimer-polimer gliserol dan ribitol, serta *lipoteichoic acid*. *teichoid acid* dan *lipoteichoic acid* merupakan unsur khusus pada bakteri gram positif. Komponen tersebut merupakan suatu polimer larut air yang berisi residu gliserol yang berhubungan dengan melalui ikatan fosfodeister dan membawa satu atau lebih asam amino. Komponen tersebut berfungsi untuk menjaga transfer ion, integritas selubung sel, dan menjaga permeabilitas eksternal, sehingga bakteri gram positif mampu bertahan hidup dalam kondisi yang kurang sesuai dengan lingkungan hidupnya (Brooks *et al.*, 2005).

4.2.2 Uji Katalase

Uji katalase yang dilakukan pada isolat untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim katalase serta toleransi isolat terhadap oksigen.

Enzim katalase merupakan enzim yang mampu mengkatalis konversi hidrogen peroksida (H₂O₂) yang toksik bagi sel menjadi air dan oksigen (Brooks, dkk, 2005; Garbutt, 1997). Hasil uji katalase pada semua isolat bakteri yang ditemukan menunjukkan hasil positif pada sebagian besar bakteri (Tabel 4.2). Hasil uji katalase yang menunjukkan pengujian negatif hanya 2 isolat yaitu FK 2 dan FK 7. Benson (2002) dalam Ahmed (2009) menyatakan bahwa katalase dari bakteri menyebabkan hidrolisis H₂O₂ (hidrogen peroksida) menjadi H₂O (air) dan O₂ (oksigen). Komponen H₂O₂ merupakan salah satu hasil respirasi aerob bakteri, hasil respirasi tersebut justru dapat membantu menghambat pertumbuhan bakteri karena bersifat toksik bagi bakteri itu sendiri. Oleh karena itu, komponen ini harus dipecah agar tidak bersifat toksik dengan katalase (McCoy, 2000). Berikut merupakan persamaan reaksi kimia yang dihasilkan oleh katalisasi enzim peroksidase terhadap H₂O₂ (Brooks, dkk, 2005; Garbutt, 1997)



4.2.3 Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora dilakukan untuk mengetahui adanya pembentukan endospora oleh bakteri. Hasil pewarnaan endospora pada semua isolat yang ditemukan pada kotoran kambing menunjukkan hasil negatif, kecuali hasil pengujian positif endospora pada isolat bakteri FK 12, FK 16 dan FK 20. Menurut Lay (1994) uji pewarnaan endospora positif jika sel vegetatif bakteri berwarna merah dan terdapat spora di dalam sel yang berwarna hijau, sedangkan hanya ada sel vegetatif saja yang berwarna merah tidak ada spora hasilnya negatif.

Endospora merupakan bentuk dorman dari sel vegetatif, sehingga metabolismenya bersifat inaktif dan mampu bertahan dalam tekanan fisik dan kimia seperti panas, kering, dingin, radiasi, dan bahan kimia. Endospora merupakan struktur spesifik yang ditemukan pada beberapa jenis bakteri. Struktur endospora sangat bervariasi pada setiap spesies. Tipe spora *terminal* letaknya di ujung sel bakteri, spora *subterminal* terletak di antara ujung dan tengah dari sel bakteri, dan spora *sentral* terletak di tengah dari sel bakteri (Partic, 2008). Hasil pengujian lengkap hasil karakteristik sel bakteri yang meliputi uji cat gram, pewarnaan endospora, dan uji katalase dapat dilihat pada (Tabel 4.2).

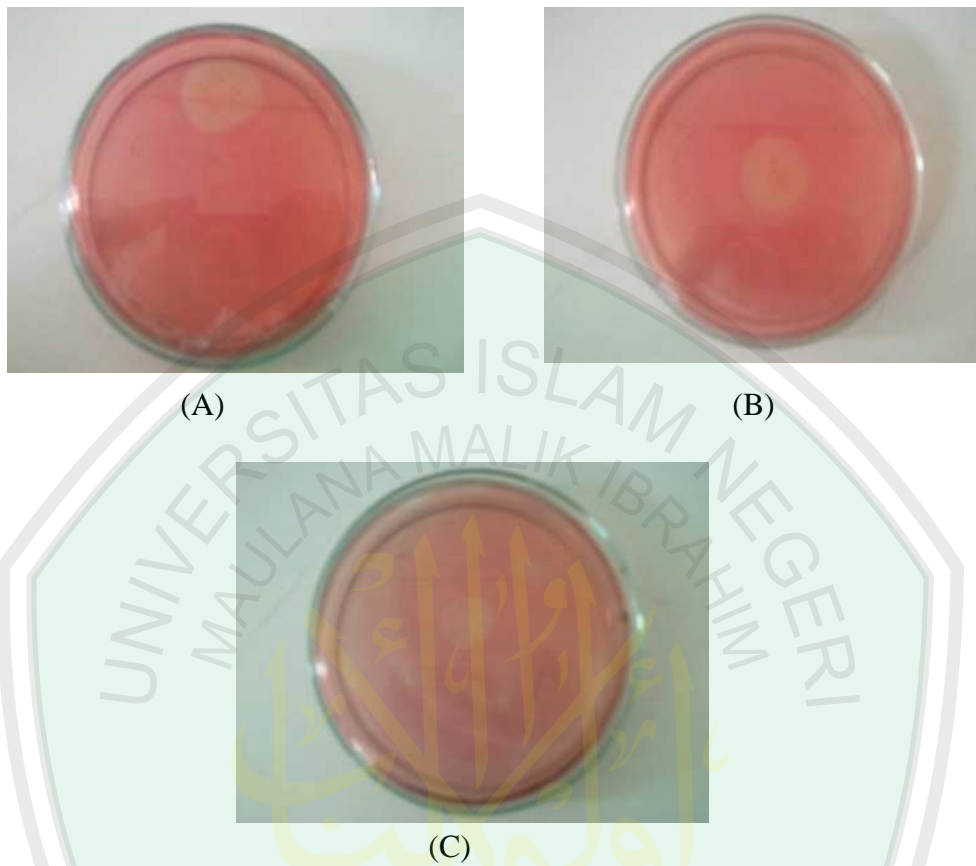
Tabel 4.2 . Karakter Sel Bakteri, hasil uji cat gram, uji endospora dan hasil uji katalase pada isolat yang ditemukan pada kotoran kambing

No	Kode Isolat	Gram	Bentuk Sel	Endospora	Katalase
1.	FK 2	-	bulat	-	-
2.	FK 4	+	batang	-	+
3.	FK 7	-	bulat	-	-
4.	FK 9	-	batang	-	+
5.	FK 12	+	batang	+	+
6.	FK 14	+	bulat	-	+
7.	FK 15	-	bulat	-	+
8.	FK 16	-	bulat	+	+
9.	FK 18	-	batang	-	+
10.	FK 20	+	batang	+	+
11.	FK 21	-	Bulat	-	+
12.	FK 22	-	batang	-	+

4.3 Uji *screening* Bakteri Selulolitik

Uji bakteri selulolitik secara kualitatif dengan CMC agar dilakukan pada 12 isolat bakteri yang diperoleh, dari hasil pengujian hanya didapatkan 3 isolat yang mempunyai aktivitas selulolitik berupa visualisasi zona bening di sekitar koloni, yaitu FK 9, FK 12, dan FK 22 (Gambar 4.3). Uji *screening* bakteri selulolitik dilakukan dengan menotol isolat pada permukaan media CMC agar. Pengujian adanya aktivitas selulolitik ditunjukkan dengan adanya zona bening pada media CMC agar setelah diberi pewarna *congo red*. Uji *screening* bakteri selulolitik membandingkan antara diameter zona bening dengan diameter koloni.

Besarnya zona bening yang dihasilkan pada ketiga isolat bakteri yang terpilih menunjukkan perbedaan. Hal ini berhubungan dengan kemampuan masing-masing isolat bakteri di dalam menghasilkan enzim selulase. Kemampuan mencerna serat bagi isolat bakteri juga bisa dilihat dari terbentuknya zona bening disekitar koloni. Bagi bakteri yang memiliki potensi mencerna serat dengan kuat akan menunjukkan zona bening yang tinggi di sekitar koloni, hal ini akibat dari perubahan struktur serat yang semakin hilang pada media berubah menjadi zat nonserat. Kemampuan di dalam menghasilkan enzim untuk mencerna serat menyebabkan perbedaan zona bening yang dihasilkan dari tiap-tiap isolat bakteri (Sudiana, 2002).



Gambar 4.3. Hasil Uji *Screening* Secara Kualitatif Isolat Bakteri FK 9 (A) Uji *Screening* Isolat Bakteri FK 12 (B) Uji *Screening* Isolat Bakteri FK 22 (C)

Pada gambar di atas tampak bahwa ada hanya 3 isolat mampu menghasilkan enzim selulase berupa zona bening pada media CMC. Hasil uji *screening* pada gambar di atas tampak bahwa isolat FK 12 mempunyai zona bening yang lebar di sekitar koloni. Isolat FK 9 dan FK 22 juga mempunyai zona bening ketika ditumbuhkan pada media CMC, sedangkan untuk sisa 9 isolat bakteri hasilnya negatif artinya tidak menghasilkan zona bening ketika ditumbuhkan dilakukan uji *screening* hal ini terlihat pada (Lampiran 4).

Visualisasi bentuk zona bening pada gambar di atas disebabkan oleh adanya hidrolisis CMC yang terdapat di dalam medium pertumbuhan bakteri. Media CMC akan terhidrolisis jika digenangi oleh pewarna *Congo red* tidak akan terwarnai. Hal ini menurut Steensma (2001), disebabkan karena antara *Congo red* dan selulosa memiliki ikatan kovalen, sehingga medium pertumbuhan bakteri yang tidak mengandung selulosa tidak akan terwarnai oleh *Congo red*.

Berdasarkan diameter zona bening dari masing-masing koloni yang diamati maka terpilih tiga isolat yang memiliki indeks diameter zona bening tinggi yaitu isolat FK 9, FK 12, dan FK 22 (Tabel 4.4). Zona bening yang terbentuk disekitar isolat menunjukkan adanya aktivitas selulolitik isolat, yaitu kemampuan isolat dalam menghidrolisis media CMC yang terdapat pada medium pertumbuhan dengan menghasilkan enzim selulase. Menurut Apun *et al.* (2000). Semakin besar zona bening yang terbentuk di sekitar koloni isolat, maka semakin besar aktivitas selulolitik yang dihasilkan. Menurut Zverlova *et al.*, (2003), uji *screening* dengan menggunakan metode zona bening adalah uji semi-kuantitatif, karena data hanya berupa perbandingan antara diameter zona bening dan dengan diameter koloni. Zona bening yang terbentuk terkait dengan kelarutan dari enzim selulase. Semakin tinggi tingkat kelarutan suatu enzim maka akan semakin besar zona bening yang terbentuk. Diameter zona bening pada umumnya berukuran lebih besar dibandingkan dengan diameter koloni, karena enzim selulase disekresikan ke lingkungan sekitarnya oleh bakteri selulolitik. Bakteri tidak dapat memasukkan molekul selulosa, karena molekul selulosa lebih besar daripada ukuran sel bakteri (Zverlova *et al.*, 2003).

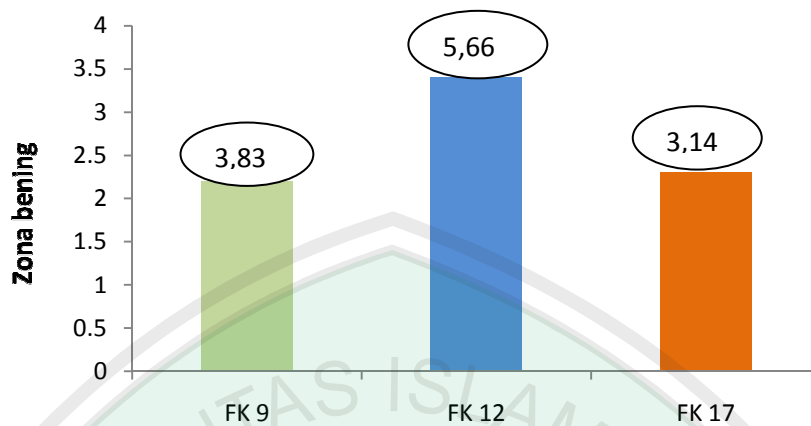
Tabel 4.3. Hasil pengukuran zona bening bakteri hasil uji aktivitas selulolitik secara kualitatif dari kotoran kambing

No	Kode Isolat	DZB (cm)	DK (cm)	Rasio ZB
1.	FK 9	2,3	0,6	3,14
2.	FK 12	3,4	0,6	5,66
3.	FK 22	2,7	0,7	3,83

Keterangan :

FK = Feses Kambing DZB = Diameter zona bening DK = Diameter Koloni
Rasio ZB = Rasio zona bening

Dari hasil pengukuran diameter zona bening dan diameter koloni tiap-tiap isolat bakteri selulolitik, didapatkan diameter untuk isolat FK 9 tampak mempunyai diameter zona bening (DZB) sebesar 2,2 cm dan diameter koloni (DK) sebesar 0,7 sehingga untuk ratio zona beningnya sebesar 3,14. Pada isolat yang kedua FK 12 mempunyai ratio ZB tertinggi diantara isolat bakteri lain yaitu 5,66 diameter zona bening sebesar 3,4 cm dan diameter koloni sebesar 0,6 cm. isolat FK 22 mempunyai diameter zona bening 2,3, diameter koloninya sebesar 0,6 cm dan untuk ratio ZB sebesar 3,83 cm.



Isolat Bakteri selulolitik

Gambar 4.4 . Aktivitas selulolitik isolat bakteri dari feses kambing berdasarkan tingginya zona bening

Isolat bakteri selulolitik yang mempunyai zona bening terbaik diantara isolat bakteri yang lain yang diperoleh akan dilakukan identifikasi berupa uji biokimia sampai tingkat spesies, karena tujuan penelitian kali ini bersifat deksriptif kualitatif, yaitu mengeksplorasi bakteri selulolitik dari kotoran kambing untuk dilakukan seleksi isolat bakteri yang kira-kira mempunyai kemampuan degradasi tertinggi terhadap selulosa, yang ditunjukkan dengan indeks diameter zona bening yang luasnya berbeda-beda. Setiap jenis bakteri mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam menghasilkan enzim selulase untuk mendegradasikan selulosa di lingkungan sekitar.

4.3 Identifikasi Isolat Bakteri Selulolitik dengan *Microbact 12E*

Berdasarkan perbedaan karakterisasi koloni, morfologi sel dan tingginya indeks zona bening yang dihasilkan dari uji *screening* maka terpilih tiga isolat bakteri selulolitik yang dilakukan pengujian lanjutan identifikasi bakteri dengan menggunakan *Microbact 12E*. Penggunaan test ini memungkinkan dilakukannya identifikasi bakteri sampai tingkat spesies. Evaluasi hasil identifikasi dilihat melalui sumur-sumur *Microbact* apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan table warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*. Nama spesies bakteri dilihat dengan *Microbact software* berdasarkan angka *oktal* yang didapat.

Berdasarkan hasil identifikasi bakteri dengan uji biokimia menggunakan test *Microbact 12E* maka isolat bakteri FK 9 cenderung masuk dalam spesies *Yersinia enterocolitica*, isolat bakteri FK 12 teridentifikasi sebagai spesies *Bacillus sphaericus* dan isolat bakteri FK 22 teridentifikasi sebagai spesies *Echerichia coli* (Tabel 4.4).

4.3.1 Identifikasi *Bacillus sphaericus*

Isolat terpilih dari hasil uji *screening* kemudian dilakukan identifikasi secara biokimia dengan *Microbact 12E*. Pada identifikasi isolat bakteri yang tumbuh pada media CMC menunjukkan hasil untuk isolat FK 12 masuk ke dalam spesies bakteri *Bacillus sphaericus*. Menurut Holt (1994) di bawah ini merupakan klasifikasi bakteri *Bacillus sphaericus* yang ditemukan pada kotoran kambing.

Kingdom : Monera

Phylum : Firmicutes

Class : Bacilli

Ordo : Bacillales

Family : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Spesies : *Bacillus sphaericus*

Bentuk sel genus *Bacillus* adalah batang pendek dan lurus, berukuran antara 0,5-2,5 x 1,2-10 μm , dan golongan bakteri ini termasuk gram positif dan bersifat motil karena mempunyai flagel di seluruh bagian selnya (*peritrichous*). Endospora berbentuk oval atau berbentuk silindris sangat resisten terhadap perubahan lingkungan. Golongan bakteri ini bersifat aerob atau fakultatif anaerobic, mempunyai kemampuan fisiologis tahan terhadap panas, pH, dan salinitas. Bakteri ini dapat melakukan metabolisme fermentasi karbohidrat dan katalase positif. *Bacillus sphaericus* bersifat pathogen terhadap vertebrata dan invertebrate (Holt, 1994).

Dari hasil identifikasi mikroskopis sel bakteri ini termasuk bakteri Gram positif yang berbentuk batang. *Bacillus sphaericus* adalah bakteri yang memproduksi endospora dalam siklus hidupnya. Isolat bakteri ini mempunyai endospora *terminal*, yaitu endospora yang letaknya di tengah sel. Menurut Madeleine (1995) *Bacillus sphaericus* mempunyai karakteristik sel yang sederhana, dengan bentuk sel yang batang panjang, gram positif, dan mempunyai

endospora terminal. Endospora merupakan bentuk dorman dari sel vegetatif, sehingga metabolismenya bersifat inaktif dan mampu bertahan dalam tekanan fisik dan kimia seperti panas, kering, dingin, radiasi dan bahan kimia.

Pada uji fermentasi karbohidrat merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri di dalam memfermentasikan karbohidrat dengan adanya perubahan pH pada media karbohidrat. Hasil uji fermentasi karbohidrat ditunjukkan dengan perubahan warna media, yaitu dari merah menjadi kuning yang dihasilkan dari fermentasi mampu menurunkan pH media menjadi lebih asam (berwarna kuning). Hasil uji fermentasi karbohidrat *Bacillus sphaericus* dapat memfermentasi gula yang kompleks jenis glukosa, laktosa dan sukrosa (Tabel 4.4). Berdasarkan uji enzim bakteri *Bacillus sphaericus* positif terhadap uji katalase, yaitu bakteri *Bacillus sphaericus* tersebut memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim katalase.

Uji karakteristik biokimia bakteri *Bacillus sphaericus* pada uji *Voges Proskauer* (VP) menunjukkan hasil positif. Sedangkan pada uji indol hasilnya negatif menunjukkan bahwa bakteri ini tidak dapat menghasilkan indol yang tampak sebagai cincin merah pada reaksi deaminasi serta asam piruvat yang dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi. Menurut Norman (2005) hasil positif pada uji *Voges Proskauer* (VP) menunjukkan bahwa bakteri mampu mengkonversi glukosa menjadi asetonin dan untuk uji indol hasil positifnya menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu menghidrolisis triptofan dengan memanfaatkan enzim triptophanase. Dari penelitian yang dilakukan oleh Permana (2010) diketahui bahwa 3 genus *Bacillus sp* yang berhasil diisolasi menunjukkan

katalase positif dan oksidase negatif, bersifat aerob, pada pengujian fermentasi karbohidrat menunjukkan hasil positif pada beberapa fermentasi gula kompleks.

Berdasarkan tempat hidupnya bakteri *Bacillus spahericus* sama seperti bakteri *E coli* merupakan bakteri yang berasal dari intestinal hewan, bakteri ini berperan penting dalam proses pendegradasian senyawa organik di dalam intestinal mahluk hidup lainnya, dari penelitian yang dilakukan oleh Prasetyo (2010) pada rumen dan intestinal sapi dapat isolasi 6 isolat bakteri yang salah satunya adalah *Bacillus spahericus*. Bakteri ini dapat membentuk zona bening setelah ditambahkan *congo red* pada medium selektif yang mengandung 1% Whatman powdered cellulose, 0,5% CMC atau 0,5% cellobiose (Bhat, and Bhat, 1997).

4.3.2 Identifikasi *Escherichia coli*

Hasil identifikasi isolat bakteri selulolitik yang kedua isolate FK 22 telah teridentifikasi sebagai spesies *Escherichia coli*. Hasil pengamatan morfologi koloni isolat *Escherichia coli* mempunyai bentuk koloni bulat, tepi koloninya *convex*, elevasinya bertepi rata (*entire*), dan warna koloni berupa putih susu. Hasil pengamatan karakter sel bakteri menunjukkan bentuk sel bakteri berbentuk batang (Gambar 4.4), selnya termasuk gram negatif, dan selnya tidak berspora Menurut Fardiaz (1988), *Echericia coli* adalah suatu bakteri gram negatif berbentuk batang, bersifat anaerobik fakultatif, mempunyai flagella dan tidak mempunyai endospora. *E. coli* merupakan bakteri fekal yang berasal dari kotoran hewan maupun manusia. Sedangkan menurut Holt (2005) *Escherichia coli* berbentuk batang pendek ukurannya 1.1-1.5 μm x 2.0-6.0 μm . sel terdapat kapsul atau

mikrokapsul pada sebagian besar strain bakteri ini. Selnya bersifat gram negative dan motil dengan flagel peritrichous atau nonmotil, dan fakultatif anaerobik. Bakteri ini bersifat kemoorganotrofik karena dapat melakukan respirasi dan fermentasi tipe metabolismenya. Menurut Holt (1994) dibawah ini merupakan klasifikasi bakteri *Escherichia coli* yang ditemukan pada kotoran kambing.

Kingdom: Monera

Phylum : Proteobacteria

Class : Gamma Proteobacteria

Ordo: Enterobacteriales

Family: Enterobacteriaceae

Genus: *Escherichia*

Spesies: *Escherichia coli*

Pada uji fermentasi karbohidrat menunjukkan hasil positif untuk glukosa, manitol, dan xylosa sedangkan untuk fermentasi karbohidrat lainnya hasilnya negatif pada laktosa, sukrosa, arabinosa, dan raffinosa hasilnya negatif (Tabel 4.4). Menurut Norman (2005) pada umumnya bakteri lebih optimal memanfaatkan sumber karbon yang paling sederhana (glukosa) daripada sumber karbon kompleks seperti laktosa, sukrosa, arabinosa dan sebagainya. Bakteri *Escherichia coli* dari hasil identifikasi hanya bisa memfermentasikan gula sederhana saja sebagai sumber karbon, yaitu glukosa, manitol dan xylosa.

Hasil dari uji fermentasi asam campuran untuk uji *Voges Proskauer* bakteri *Escherichia coli* hasilnya negatif. Karakteristik bakteri pada uji indol

menunjukkan hasil positif. Hasil uji oksidase pada bakteri ini menunjukkan hasil negatif sehingga mengindikasikan sel tidak dapat menghasilkan enzim oksidase. Menurut Norman (2005) pengujian oksidase di dalam identifikasi bakteri mempunyai tujuan untuk mengetahui kemampuan dari sel bakteri yang diuji dalam menghasilkan enzim oksidase dan mendeteksi sitokrom c.

Hasil uji motilitas rata-rata bakteri yang telah dilakukan identifikasi hasilnya positif. Pada pengujian motilitas untuk bakteri *Escherichia coli* sama seperti isolat bakteri lainnya hasilnya positif, artinya sel bakteri mampu melakukan pergerakan karena adanya alat gerak. Karakter biokimia lain yang identifikasi adalah uji sitrat simmons untuk bakteri ini hasilnya negatif dibandingkan dengan bakteri *Bacillus spahericus* yang hasilnya positif menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon yang terkandung dalam media. Menurut Alaexander dan Strete (2001) enzim sitrase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis asam sitrat menjadi asam piruvat, asam asetat, serta karbondioksida.

Menurut Holt (1994) pada fermentasi D-Glukosa dan karbohidrat bakteri ini mampu menghasilkan asam dan gas. Golongan bakteri ini mempunyai oksidase negatif, katalase positif, *Voges-Proskauer* negatif, dan biasanya hasil uji sitrat negatif. Pengujian negative pada H₂S, urea hidrolisis, dan lipase. *Escherichia coli* dapat mereduksi nitrat, dan sebagian besar dapat menfermentasikan L-arabinosa, maltose, D-mannitol, D-mannosa, L-rhamnosa, dan D-Xylosa.

Tabel 4.4. Hasil Identifikasi dengan Mikrobact 12E Isolat Bakteri Selulolitik yang diisolasi dari Feses kambing

No	Jenis Pengamatan		Isolat		
			FK 9	FK 12	FK 22
1.	Makroskopis	Bentuk koloni	circulair	circulair	circulair
		Warna koloni	putih susu	putih susu	putih susu
		Elevasi	flat	flat	convex
		Tepi	entire	entire	entire
2.	Mikroskopis	Pewarnaan Gram	-	+	-
		Bentuk Sel	Batang	Batang	Batang
		Endospora	-	+	-
3.	Uji Biokimia	Katalase	+	+	+
		Nitrat	+	-	-
		Indol	-	-	+
		Motility	+	+	+
		VP	-	-	-
		Sitrat	-	+	-
		H ₂ S	-	-	-
		Urease	+	-	-
		Lysin	-	-	+
		Omithin	+	+	+
		Salicin	-	-	-
		Arginin	-	-	-
		Gelatin	-	-	-
		TDA	-	-	-
4.	Uji Gula-Gula	Glukose	+	+	+
		Sukrose	-	+	-
		manitol	+	+	+
		Xylosa	+	+	+
		Rhamnosa	-	-	-
		Laktosa	-	+	-
		Arabinosa	-	-	-
		Adonitol	-	-	-
		Raffinosa	-	-	-
		Spesies	<i>Yersinia Enterocolitica</i>	<i>Bacillus spahericus</i>	<i>Echerichia coli</i>

Keterangan :

+ = ada reaksi

VP = *Voges Proskauer*

- = tiada ada reaksi

TDA = *Triptopan deaminase*

4.3.3 Identifikasi Bakteri *Yersinia enterocolitica*

Hasil identifikasi untuk isolat bakteri selulolitik yang terakhir yaitu FK 9, dari hasil identifikasi meliputi uji karakteristik dan uji biokimia maka untuk isolat FK 9 teridentifikasi sebagai spesies *Yersinia enterocolitica*. Menurut Holt (2005) dibawah ini merupakan klasifikasi bakteri *Yersinia enterocolitica* yang ditemukan pada kotoran kambing.

Kingdom: Monera

Phylum: Proteobacteria

Class: Gamma Proteobacteria

Ordo: Enterobacteriales

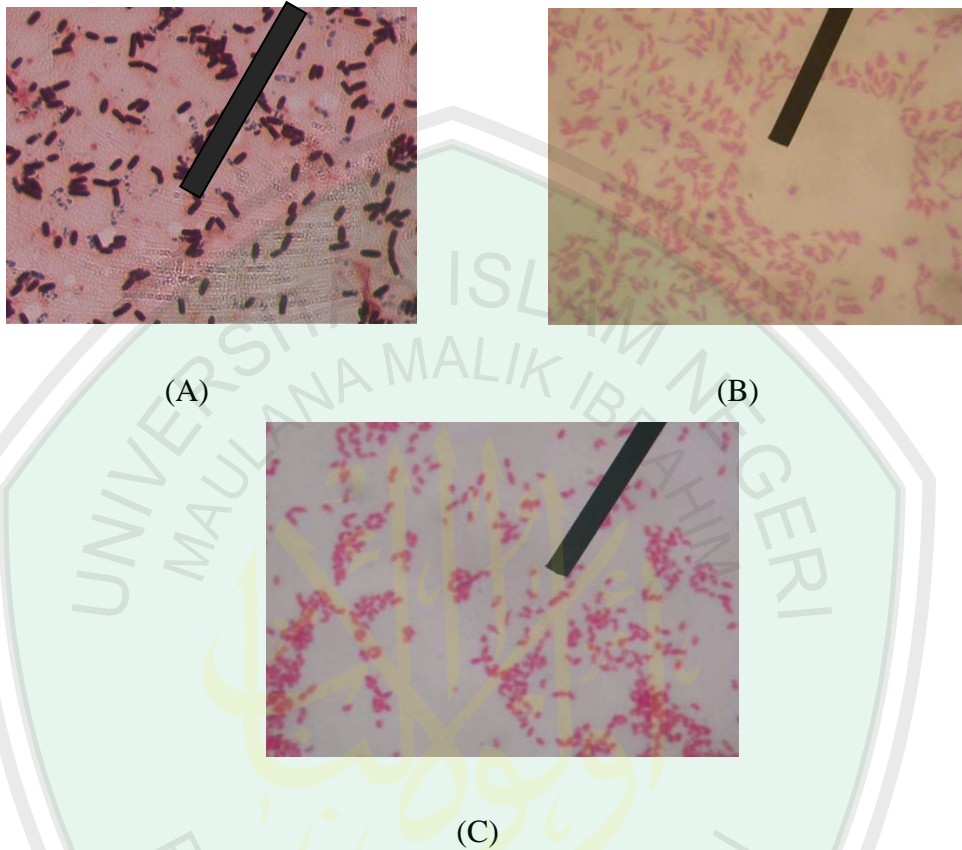
Family: Enterobacteriaceae

Genus: *Yersinia*

Spesies: *Yersinia enterocolitica*

Hasil pengamatan karakter sel bakteri *Yersinia enterocolitica* menunjukkan bahwa bakteri ini mempunyai karakter sel berbentuk batang panjang, (Gambar 4.4), Gram negatif, selnya tidak mempunyai endospora. Menurut Holt *et al.* (1994) karakter dari koloni bakteri *Yersinia enterocolitica* adalah sebagai berikut. Sel berbentuk batang dengan diameter koloni 2,2 mm dengan ujung bulat, selnya tidak mempunyai endospora. Sel bersifat Gram negatif, motil, aerobik, dan oksidase negatif. Bakteri ini sama dengan *E coli* merupakan bakteri golongan Enterobacteraceae termasuk bakteri fekal karena

banyak ditemukan di kotoran hewan maupun manusia dan dapat ditemukan di saluran intestin pada hewan.



Gambar 4.4 : Karakteristik bentuk sel Bakteri *Bacillus sphaericus* (A) Bentuk sel Bakteri *Yersinia enterocolitica* (B) Bentuk sel Bakteri *Echerichia coli* (C)

Pengujian fermentasi karbohidrat pada tabel di atas, bakteri *Yersinia enterocolitica* hanya mampu menfermentasikan sumber karbon, yaitu Glukosa, Mannitol, dan Xylosa sehingga hasilnya positif pada pengujian 3 karbohidrat ini. Sedangkan golongan sumber karbon lain Sukrosa, Laktosa, Rhamnosa, Raffinosa dan Arabinosa hasilnya negatif terlihat pada (tabel 4.4). Menurut Tortora *et al.*

(2001) umumnya bakteri lebih optimal di dalam memanfaatkan golongan karbohidrat yang paling sederhana daripada sumber karbohidrat yang lebih kompleks seperti Laktosa, Sukrosa, dan Arabinosa. Hasil fermentasi karbohidrat menghasilkan gas CO₂ dari Asam laktat yang ada pada setiap media sumber karbohidrat yang digunakan pada pengujian fermentasi.

Dari hasil pengujian *Voges Proskauer* (VP) untuk bakteri *Yersinia enterocolitica* menunjukkan hasil negatif artinya bahwa bakteri tersebut tidak dapat mengkonversi glukosa menjadi asetonin. Sedangkan untuk uji indole pengujian menunjukkan hasil negatif karena bakteri *Yersinia enterocolitica* tidak mampu menghidrolisis dari senyawa triptofan dalam metabolisme hidupnya. Berdasarkan uji enzim katalase bakteri *Yersinia enterocolitica* hasilnya positif menghasilkan enzim katalase, sehingga bakteri ini memiliki karakter respirasi yang bersifat aerob. Menurut Alexander dan Strete (2001) sel bakteri secara fisiologis menghasilkan H₂O₂ selama proses respirasi aerob. Adanya akumulasi H₂O₂ di dalam sel bersifat toksik. Dengan demikian, bakteri yang memiliki kemampuan dalam memproduksi enzim katalase memiliki kemampuan dalam mereduksi H₂O₂ untuk keseimbangan reaksi kimiawi di dalam sel.

Bakteri ini optimal tumbuh pada temperatur 28-30 C. pada fermentasi D-Glukosa dan karbohidrat bakteri ini mampu menghasilkan sedikit asam dan tidak ditemukan gas. Oksidase negatif dan katalase positif dan tidak dapat memproduksi indol pada semua spesies. *Voges-Proskauer* dan tes sitrat negative pada suhu 37 C tetapi dapat berubah pada suhu 25-28 C. Biasanya tes *lysine dekarboxilase*, *arginin dehidrolase* hasilnya negatif, sedangkan *ornitine decarboxylase* bersifat

positif. Bakteri ini tidak mampu memproduksi H_2S dan dapat memreduksi nitrat. arbohidrat difermentasi oleh semua atau sebagian besar spesies termasuk L-arabinosa, maltosa, D-manitol, D-manosa, dan trehalosa. Bakteri ini dapat ditemukan dalam spektrum yang luas dari habitat termasuk manusia, binatang, terutama tikus dan burung, tanah, air, produk susu dan makanan lainnya (Holt, 1994).

